

SESSION 2023

CAPET ET CAFEP
CONCOURS EXTERNE

Section
BIOTECHNOLOGIES

Option
BIOCHIMIE – GÉNIE BIOLOGIQUE

Épreuve écrite disciplinaire appliquée

L'épreuve place le candidat en situation de produire une analyse critique de documents puis de construire une séquence pédagogique à partir d'un sujet donné par le jury.

Elle permet de vérifier l'aptitude du candidat, à partir d'un dossier documentaire scientifique et technique, à conduire une analyse et à proposer une séquence pédagogique en lien avec un cahier des charges donné spécifiant le cadre de mise en œuvre et qui pourra faire appel à une réflexion sur les enjeux éducatifs, économiques, éthiques, écologiques, sociétaux, etc.

La séquence pédagogique s'inscrit dans les programmes des enseignements technologiques du lycée d'enseignement général et technologique et, le cas échéant, dans les référentiels des sections de techniciens supérieurs.

Le sujet est spécifique à l'option choisie.

Durée : 5 heures

L'usage de tout ouvrage de référence, de tout dictionnaire et de tout matériel électronique (y compris la calculatrice) est rigoureusement interdit.

Il appartient au candidat de vérifier qu'il a reçu un sujet complet et correspondant à l'épreuve à laquelle il se présente.

Si vous repérez ce qui vous semble être une erreur d'énoncé, vous devez le signaler très lisiblement sur votre copie, en proposer la correction et poursuivre l'épreuve en conséquence. De même, si cela vous conduit à formuler une ou plusieurs hypothèses, vous devez la (ou les) mentionner explicitement.

NB : Conformément au principe d'anonymat, votre copie ne doit comporter aucun signe distinctif, tel que nom, signature, origine, etc. Si le travail qui vous est demandé consiste notamment en la rédaction d'un projet ou d'une note, vous devrez impérativement vous abstenir de la signer ou de l'identifier.

Le fait de rendre une copie blanche est éliminatoire.

Tournez la page S.V.P.

Les biotechnologies au cœur de l'évolution des techniques vaccinales

La pandémie de Covid-19 a révélé au grand public la place essentielle des biotechnologies dans le développement de moyens de prévention d'une part et de méthodes de diagnostic d'autre part en vue de traiter les pathologies infectieuses.

La mise au point de nouveaux vaccins dans un temps très réduit a notamment été rendue possible grâce aux recherches menées durant les dernières décennies.

 1796 Le vaccin contre la variole est le 1 ^{er} vaccin, développé par le docteur britannique Edward Jenner	1853 La vaccination obligatoire de la variole au Royaume-Uni suscite l'opposition. En 1898, la loi autorise la vaccination optionnelle	 1885 Vaccin contre la rage par le scientifique français Louis Pasteur <i>Vaccin vivant atténué</i>	1971 Rougeole, oreillons, rubéole (ROR) <i>Vaccin vivant atténué combiné</i>	1977 Vaccin contre 14 types de la bactérie pneumocoque		
			1976 La vaccination contre la grippe aux États-Unis s'arrête après avoir été associée aux syndromes de Guillain-Barré	1980 Variole éradiquée		
1921 Vaccin Bacille Calmette-Guérin (BCG) contre la tuberculose	1936 Fièvre jaune	1944 Encéphalite japonaise	1986 Hépatite B <i>Vaccin protéine recombinante</i>	2006 Papillomavirus humain (HPV)	2009 H1N1	
1923 Vaccin contre la diphtérie <i>Vaccin toxine inactivée</i>	1944/45 Première campagne de vaccination contre la grippe <i>Vaccin sous-unitaire (fraction Ag)</i>					1995 Hépatite A, varicelle
1926 Tétanos et coqueluche	1960 Polio <i>Vaccin inactivé</i>	1963 Rougeole	1969 Rubéole	2002 Polio éradiquée d'Europe	Pfizer-BioNTech, Moderna <i>Vaccin à ARN messager</i>	Astrazeneca, Johnson et Johnson <i>Vaccin à vecteur viral</i>

D'après AFP, OMS, CDC, historyofvaccines.org

Première partie

En prenant appui sur le corpus documentaire, vous présenterez le principe immunologique de la vaccination, les principes de techniques vaccinales classiques puis de techniques vaccinales innovantes, leurs avantages et leurs limites. Les enjeux socio-économiques et éthiques de la vaccination seront abordés.

Parmi les documents choisis dans le corpus, vous veillerez à analyser de manière plus approfondie le document 9 et au choix, le document 6 ou le document 8, afin de construire votre argumentation.

Deuxième partie

Dans la perspective de l'enseignement de spécialité « biochimie, biologie et biotechnologies » de la classe de terminale « Sciences et technologies de laboratoire spécialité biotechnologies », vous présenterez une séquence pédagogique permettant de montrer aux élèves l'apport des biotechnologies dans la conception d'un vaccin et dans l'évaluation de son efficacité.

Cette séquence comportera nécessairement des activités technologiques de laboratoire. La démarche didactique et pédagogique intégrera des documents du corpus et s'inscrira dans le cadre d'une réflexion plus générale sur les enjeux sociétaux.

Vous préciserez les prérequis, l'organisation temporelle de la séquence ainsi que les objectifs de formation et le type d'activités. Vous présenterez les adaptations des documents en vue de produire des supports d'activité pédagogiquement pertinents.

Sommaire des documents

Document 1 - Impact des vaccinations de routine sur l'incidence des maladies infantiles en France au XX^{ème} siècle

D'après *La revue du praticien* octobre 2010

Document 2 - Carte de l'obligation vaccinale en Europe

D'après OMS et UNICEF

Document 3 - Principales contre-indications des vaccins

D'après la revue *Actualités pharmaceutiques* n°527 juin 2013

Document 4 - Étude de la réponse immunitaire de rats immunisés au polysaccharide pariétal du streptocoque A

D'après "Immune Response of Rats to Group A Streptococcal Vaccine" Gerrie A. Leslie and Henry F. CARWILE *INFECTION AND IMMUNITY*, May 1973, p. 781-785 Vol. 7, No. 5

Document 5 - Évolution de la production d'IgG anti-tétaniques après vaccination et rappels par le DT-polio

D'après "Changes of Tetanus Specific IgG, IgM and IgG Subclasses after DPT Vaccination", *Yonsei Medical Journal*, Vol.30, No2, 1989, Jung Soo Kim, Sun Jun Kim, Kyung Jin Shin, Pyoung Han Hwang and Soo Chul

Document 6 - Étude comparative de la potentialisation de l'immunogénicité d'un antigène par un adjuvant

D'après "Combination adjuvants for the induction of potent, long-lasting antibody and T-cell responses to influenza vaccine in mice". Andreas Wacka, Barbara C. Baudner, Anne K. Hilbert, Ilaria Manini, Sandra Nuti, Simona Tavarini, Hanno Scheffczik, Mildred Ugozzoli, Manmohan Singhd, Jina Kazzaz, Emanuele Montomoli, Giuseppe Del Giudicea, Rino Rappuoli, Derek T. O'Hagan. *Vaccine* (2008) 26, 552—561

Document 7 - Le vaccin contre l'hépatite B : un vaccin recombinant

7a - Histoire du vaccin contre l'hépatite B

7b - Production of recombinant HB Vaccine

D'après "Production and immunological analysis of recombinant hepatitis B vaccine." Emilio A. Emini, Ronald W. Ellis, William J. Miller, William J. McAleer, Edward M. Scolnick and Robert J. Gerety Department of Virus and Cell Biology, Merck, Sharp & Dohme Research Laboratories, West Point, PA 19486, U.S.A. *Journal of Infection* (1986) (Supplement A), 3-9

Document 8 - Étude de l'efficacité d'un vaccin ARNm contre le SARS-CoV2

D'après "The BioNTech / Pfizer vaccine BNT162b2 induces class-switched SARS-CoV-2-specific plasma cells and potential memory B cells as well as IgG and IgA serum and IgG saliva antibodies upon the first immunization Anne S. Lixenfeld, Inga Künsting, Emily L. Martin, Vera von Kopylow, Selina Lehrian, Hanna B. Lunding, Jana S. Buhre, Janna Quack, Moritz Steinhaus, Tobias Graf, Marc Ehlers, and Johann Rahmüller Preprint : medRxiv 2021.03.10.21252001

8a - Protocole de quantification des IgG par technique ELISA

8b - Comparaison de la concentration en anticorps présents dans les sérums de patients vaccinés par une seule dose de Pfizer et dans les sérums de patients ayant contracté la Covid 19

Document 9 - Un vaccin anticholérique à base de riz génétiquement modifié

9a - Étude de l'expression de CTB dans le riz transgénique

D'après "Rice-based mucosal vaccine as a global strategy for cold-chain- and needle-free vaccination" Tomonori Nochi, Hidenori Takagi, Yoshikazu Yuki, Lijun Yang, Takehiro Masumura, Mio Mejima, Ushio Nakanishi, Akiko Matsumura, Akihiro Uozumi, Takachika Hiroi, Shigeto Morita, Kunisuke Tanaka, Fumio Takaiwa, and Hiroshi Kiyono *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007 Jun 26;104(26):10986-91

9b - Étude de l'influence des conditions de conservation du riz transformé

D'après "Rice-based mucosal vaccine as a global strategy for cold-chain- and needle-free vaccination." Tomonori Nochi, Hidenori Takagi, Yoshikazu Yuki, Lijun Yang, Takehiro Masumura, Mio Mejima, Ushio Nakanishi, Akiko Matsumura, Akihiro Uozumi, Takachika Hiroi, Shigeto Morita, Kunisuke Tanaka, Fumio Takaiwa, and Hiroshi Kiyono, *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007 Jun 26;104(26):10986-91

9c - Impact du microbiote sur l'immunisation suite à l'ingestion du muco-rice CTB

D'après "Oral MucoRice-CTB vaccine for safety and microbiot-dependent immunogenicity in humans: a phase 1 randomised trial". Yoshikazu Yuki, Masanori Nojima, Osamu Hosono, Hirotohi Tanaka, Yasumasa Kimura, Takeshi Satoh, Seiya Imoto, Satoshi Uematsu, Shiho Kurokawa, Koji Kashima, Mio Mejima, Rika Nakahashi-Ouchida, Yohei Uchida, Takanori Marui, Noritada Yoshikawa, Fumitaka Nagamura, Kohtaro Fujihashi, Hiroshi Kiyono *Lancet Microbe* 2021; 2:e429-40

Document 10 - Perspectives en termes de développement de vaccin

D'après le dossier INSERM 2015

Document 11 - Extraits du programme de « Biochimie, Biologie et Biotechnologies » en classe de Terminale Sciences et Technologies de Laboratoire spécialité Biotechnologies

INFORMATION AUX CANDIDATS

Vous trouverez ci-après les codes nécessaires vous permettant de compléter les rubriques figurant en en-tête de votre copie. Ces codes doivent être reportés sur chacune des copies que vous remettrez.

CAPET EXTERNE - BIOTECHNOLOGIES

Option : BIOCHIMIE-GÉNIE BIOLOGIQUE

► Concours externe du CAPET de l'enseignement public :

Concours	Section/option	Epreuve	Matière
EDE	7100E	102	9312

► Concours externe du CAPET de l'enseignement privé :

Concours	Section/option	Epreuve	Matière
EDF	7100E	102	9312

Document 3 - Principales contre-indications des vaccins

D'après la revue *Actualités pharmaceutiques* n°527 juin 2013

Type de vaccin \ Situations particulières	Vivant	Atténué
Allergie à un composant du vaccin	Contre-indication si le vaccin en question contient le composant allergisant (ex : adjuvant)	
Déficit immunitaire grave (SIDA...)	Contre-indication	Précaution
Grossesse	Contre-indication	Aucune
Administration récente d'un produit sanguin contenant des anticorps	Précaution	Aucune
Administration récente d'un vaccin à virus vivant	Précaution	Aucune
Troubles hémorragiques graves	Précaution	Précaution

Document 4 - Étude de la réponse immunitaire de rats immunisés au polyoside pariétal du streptocoque A

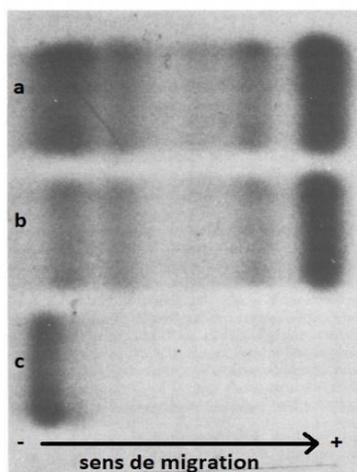
D'après l'article "Immune Response of Rats to Group A Streptococcal Vaccine" GERRIE A. LESLIE AND HENRY F. CARWILE *INFECTION AND IMMUNITY*, May 1973, p. 781-785 Vol. 7, No. 5

Afin d'évaluer la réponse immunitaire immunologique de rats au polyoside pariétal du streptocoque A (PPA), ces derniers subissent de multiples injections de cet antigène.

Après immunisation, le sang est prélevé puis une partie du sérum est traitée sur colonne afin de retirer les anticorps spécifiques aux PPA.

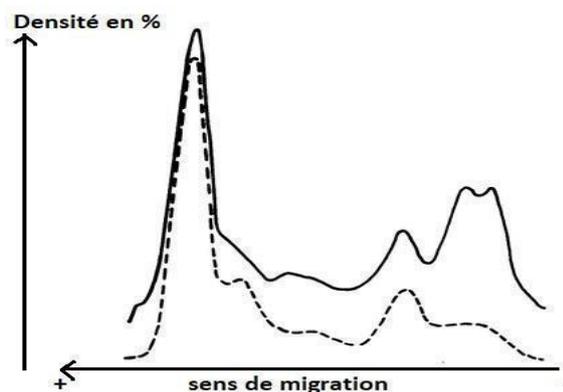
Une électrophorèse est enfin réalisée sur le sérum complet, le sérum privé des anticorps spécifiques aux PPA et les anticorps spécifiques.

Résultats de l'électrophorèse



Électrophorégramme

- a) sérum d'un rat prélevé 6 semaines après immunisation,
- b) sérum du même rat exempt des anticorps anti-polyoside C du streptocoque A,
- c) fraction purifiée du sérum du même rat contenant uniquement les Ac anti-polyoside C du streptocoque A



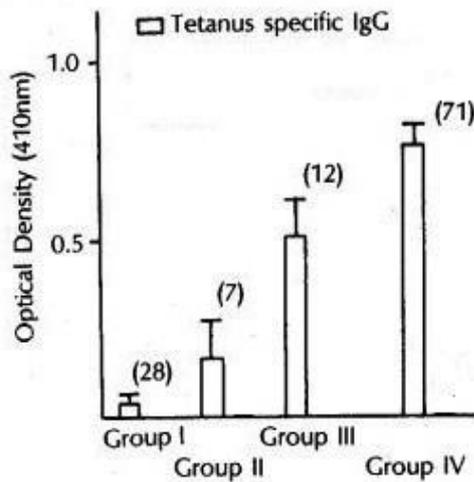
Densitogramme

Sérums de rats non immunisés (---)
 Sérums de rats prélevés 6 semaines après immunisation (—) avec le vaccin contre le streptocoque du groupe A

Document 5 - Évolution de la production d'IgG anti-tétaniques après vaccination et rappels par le DT-polio

D'après "Changes of Tetanus Specific IgG, IgM and IgG Subclasses after DPT Vaccination", Yonsei Medical Journal, Vol.30, No2, 1989, Jung Soo Kim, Sun Jun Kim, Kyung Jin Shin, Pyoung Han Hwang and Soo Chul Cho

Les immunoglobulines antitétaniques sont dosées par la méthode ELISA réalisée avec un conjugué marqué à la PAL générant du PNP.



Changes of tetanus specific IgG responses after DPT vaccination.

Group I : Neonates and no vaccination group

Group II: DPT vaccination: 1 dose

Group III: DPT vaccination: 2 doses

Group IV: DPT vaccination: more than 3 doses

Figures in parenthesis indicate number of person. Each column & bar represents mean \pm SE respectively.

Results achieved by an ELISA method

Document 6 - Étude comparative de la potentialisation de l'immunogénicité d'un antigène par un adjuvant

D'après "Combination adjuvants for the induction of potent, long-lasting antibody and T-cell responses to influenza vaccine in mice". Andreas Wacka, Barbara C. Baudner, Anne K. Hilbert, Ilaria Manini, Sandra Nuti, Simona Tavarini, Hanno Scheffczik, Mildred Ugozzoli, Manmohan Singh, Jina Kazzaz, Emanuele Montomoli, Giuseppe Del Giudice, Rino Rappuoli, Derek T. O'Hagan. *Vaccine* (2008) 26, 552—561

Afin de comparer l'effet d'adjuvants sur la potentialisation de l'immunogénicité, des lots de 8 à 12 souris femelles de 8 semaines, ont été immunisées par des injections intramusculaires à J0 puis à J28 avec 0,3 µg d'antigène trivalent issu du virus *Influenza* H3N2 (virus entier, ayant une capacité importante d'hémagglutination). Différents types d'adjuvants sont ajoutés à cet antigène : MF59 (émulsion huile dans eau à base de squalène), PLG (poly lactide-co-glycolide), Alum (aluminium hydroxyde), CAP (Calcium phosphate), CpG (oligonucléotide).

L'effet des adjuvants a été évalué par un test d'inhibition de l'hémagglutination en présence d'anticorps produits chez des souris immunisées par un vaccin grippal produit en culture de cellules.

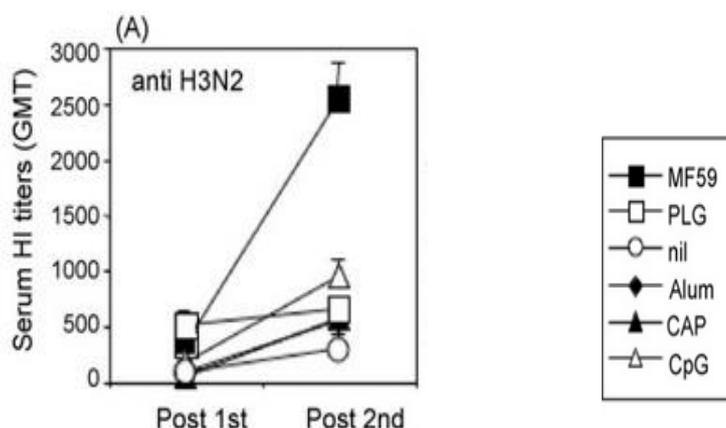
Principe de l'inhibition de l'hémagglutination

Le dosage des anticorps est réalisé par détermination de l'inhibition de l'hémagglutination (IH) sur des sérums individuels prélevés 2 semaines après la première ou la deuxième immunisation.

Un aliquot de 25 µL d'échantillon dilué en série dans les cupules d'une microplaque est incubé pendant 60 min à température ambiante, avec 25 µL d'antigène dérivé de la souche grippale A- Wyoming H3N2. Une suspension à 0,5 % v/v de globules rouges obtenue à partir de coqs adultes est ajoutée et le mélange est incubé pendant 60 min supplémentaires. Les réactions sont suivies à l'œil nu : la formation d'un point rouge (ou bouton de sédimentation) au fond des cupules indique une réaction positive (inhibition) alors qu'un voile diffus d'hématies indique une réaction négative (hémagglutination). Tous les sérums sont analysés en double.

Le titre du sérum est défini comme la plus grande dilution sérique qui permet une inhibition complète de l'hémagglutination. La concentration en anticorps correspond au facteur de dilution. Les titres moyens géométriques (GMT) d'au moins six souris par lot, sont reportés sur le graphique.

Résultats de l'inhibition de l'hémagglutination



Des groupes de 8 souris Balb/c ont été immunisés par voie intramusculaire aux semaines 0 et 4 avec un vaccin contre la grippe produit en culture cellulaire (FCC) contenant 0,1 g chacun d'antigène dérivé de la souche grippale A-Wyoming H3N2, soit seul (*nil*), soit avec adjuvant (*MF59*, *PLG*, *Alum*, *CAP*, *CpG*).

Les moyennes des titres sériques d'inhibition de l'hémagglutination (IH) contre le H3N2 sont indiquées 2 semaines après la première dose (Post 1st) et 2 semaines après la deuxième dose (Post 2nd) de vaccin.

Document 7 - Le vaccin contre l'hépatite B : un vaccin recombinant

7a - Histoire du vaccin contre l'hépatite B

Les recherches du professeur P. Maupas ont porté sur les virus des hépatites et sur la relation entre virus et cancer. Il a mis au point un vaccin constitué d'une fraction de virus (antigène HBs) purifiée à partir d'un produit biologique humain : le plasma de patients porteurs de longue date d'une infection par le virus de l'hépatite B. La vaccination d'origine plasmatique a été remplacée par la suite par des vaccins constitués de fractions antigéniques obtenues par recombinaison génétique.

7b - Production of recombinant HB Vaccine

D'après "Production and immunological analysis of recombinant hepatitis B vaccine." Emilio A. Emini, Ronald W. Ellis, William J. Miller, William J. McAleer, Edward M. Scolnick and Robert J. Gerety Department of Virus and Cell Biology, Merck, Sharp & Dohme Research Laboratories, West Point, PA 19486, U.S.A. Journal of Infection (1986) x3 (Supplement A), 3-9

The piece of the HBV genome coding for the 226 residues of HBsAg was genetically engineered into cells of *S. cerevisiae* via a specific vector plasmid and placed under the control of a constitutive promoter. The protein produced by the engineered yeast cells has an apparent molecular weight of 24000 Daltons and is not glycosylated.

Following an appropriate period of growth, the yeast cells are harvested and disrupted under pressure. Subsequent purification of the HBsAg takes advantage of the extremely hydrophobic character of the protein. The cell lysate is clarified by filtration and is first fractionated by hydrophobic adsorption chromatography. The eluate from this step is further purified by non-immune affinity chromatography and size-exclusion chromatography. The resulting purified surface antigen particle is then treated chemically to convert it into a fully disulphide-bonded form similar to the plasma-derived particle. The final product is sterilized by filtration, treated with formalin and adsorbed on to alum. Thimerosal is added as a preservative.

Document 8 - Étude de l'efficacité d'un vaccin ARNm contre le SARS-CoV2

D'après "The BioNTech / Pfizer vaccine BNT162b2 induces class-switched SARS-CoV-2-specific plasma cells and potential memory B cells as well as IgG and IgA serum and IgG saliva antibodies upon the first immunization Anne S. Lixenfeld, Inga Künsting, Emily L. Martin, Vera von Kopylow, Selina Lehrian, Hanna B. Lunding, Jana S. Buhre, Janna Quack, Moritz Steinhaus, Tobias Graf, Marc Ehlers, and Johann Rahmüller Preprint : medRxiv 2021.03.10.21252001

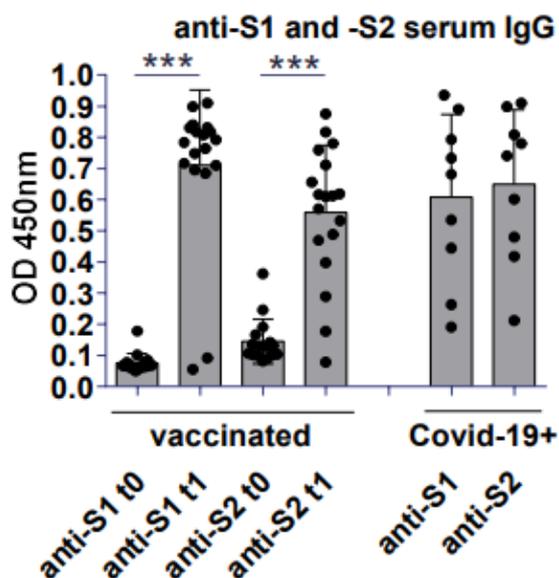
8a - Protocole de quantification des IgG par technique ELISA

Alternatively, 96-well ELISA plates were coated with 4 µg/ml of SARS-CoV-2-S1 or -S2 antigen to identify anti-S1- and anti-S2 IgG. The plates were washed with 0.05% Tween 20 in PBS to remove unbound antigen. Detection additional blocking was performed with 0.05% Tween 20, 3% BSA in PBS. Subsequently, serum (diluted 1/100 in 0.05% Tween 20, 3% BSA in PBS) were added. Bound antibodies were detected with horseradish peroxidase (HRP)-coupled polyclonal goat anti-human IgG Fc in 0.05% Tween 20, 3% BSA in PBS.

After incubation with the 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMB) substrate, the optical density (OD) was measured at 450 nm.

Here, we analyzed anti-S1 (the extracellular part of S containing the RBD) and anti-S2 (the transmembrane and intracellular part of S) IgG in the serum of 19 individuals after the first immunization of the BNT162b2 vaccine.

8b - Comparaison de la concentration en anticorps présents dans les sérums de patients vaccinés par une seule dose de Pfizer et dans les sérums de patients ayant contracté la Covid-19



Résultats de quantification par technique ELISA des IgG anti-S1 et anti-S2 dans le sérum de 19 patients ayant reçu une injection à t0 de BNT162b2 (Pfizer/BioNTech), dans le sérum de ces mêmes patients 22 jours après vaccination et dans le sérum de 9 autres patients ayant contracté la Covid-19.

Document 9 - Un vaccin anticholérique à base de riz génétiquement modifié

Le choléra est une maladie provoquée par la toxine de *Vibrio cholerae*. Cette toxine comprend 6 sous-unités : un pentamère de 55 kDa composé de 5 sous-unités B et une sous-unité A de 27 kDa environ. Cette toxine est donc de type AB₅.

Selon les estimations de l'OMS, il y a chaque année 1,3 à 4 millions de cas de choléra, et 21 000 à 143 000 décès dus à la maladie dans le monde. Une stratégie mondiale de lutte a été engagée en 2017 avec pour cible de diminuer de 90% les décès dus au choléra.

Il est prévu que des vaccins anti-cholériques sûrs, administrés par voie orale soient utilisés conjointement à l'amélioration de l'approvisionnement en eau et de l'assainissement.

Il existe déjà quatre vaccins oraux contre cette maladie, dont l'administration est réalisée sous forme de gouttes à placer sur la langue. Fabriqués à partir de souches de *Vibrio cholerae* inactivées, ces vaccins nécessitent une conservation au froid, ils peuvent également générer des effets secondaires comme des nausées, de la fatigue ou encore des douleurs abdominales.

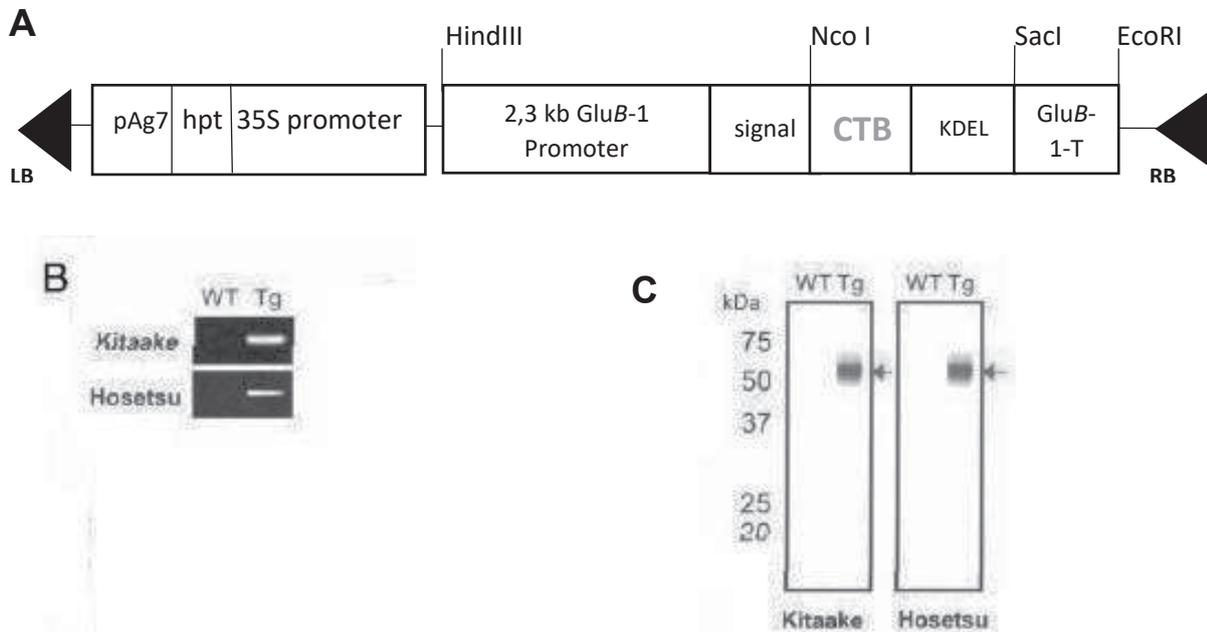


This cartoon shows a simplified summary of the Mucorice-CTB vaccine trial. © Dr. Hiroshi Kiyono, CC BY.

Des chercheurs de l'Université de Tokyo ont donc développé un nouveau vaccin oral contre le choléra : le vaccin Mucorice-CTB, obtenu à partir de deux variétés de riz OGM (Kitaake et Hoetsu) produisant le pentamère de sous-unités B de la toxine cholérique (CTB).

9a - Étude de l'expression de CTB dans le riz transgénique

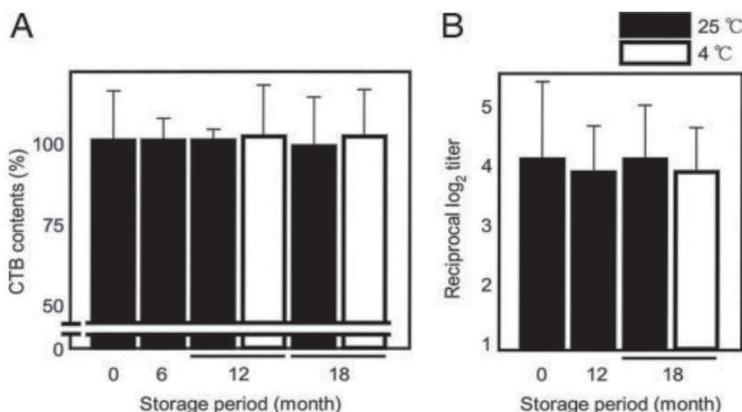
D'après "Rice-based mucosal vaccine as a global strategy for cold-chain- and needle-free vaccination" Tomonori Nochi, Hidenori Takagi, Yoshikazu Yuki, Lijun Yang, Takehiro Masumura, Mio Mejima, Ushio Nakanishi, Akiko Matsumura, Akihiro Uozumi, Takachika Hiroi, Shigeto Morita, Kunisuke Tanaka, Fumio Takaiwa, and Hiroshi Kiyono Proc Natl Acad Sci U S A. 2007 Jun 26;104(26):10986-91



- A.** Le vecteur recombinant utilisé est introduit par infection des cellules végétales avec *Agrobacterium tumefaciens*. L'expression du gène CTB est sous le contrôle du promoteur 2,3- kbGluB-1 qui contrôle normalement l'expression de la glutéline dans les cellules de riz. Les séquences (signal et KDEL) qui permettent l'excrétion de la glutéline sont localisées dans les zones codant les régions N et C-terminales de CTB.
- B.** Résultats de l'électrophorèse des amplicons issus de la PCR du gène CTB chez les espèces de riz sauvages (WT) et chez les deux variétés de riz transgénique (Tg).
- C.** Résultats du western-blot mettant en évidence le pentamère de sous-unités B de la toxine cholérique (CTB) obtenu après SDS-PAGE en conditions non réductrices.

9b - Étude de l'influence des conditions de conservation du riz transformé

D'après "Rice-based mucosal vaccine as a global strategy for cold-chain- and needle-free vaccination." Tomonori Nochi, Hidenori Takagi, Yoshikazu Yuki, Lijun Yang, Takehiro Masumura, Mio Mejima, Ushio Nakanishi, Akiko Matsumura, Akihiro Uozumi, Takachika Hiroi, Shigeto Morita, Kunisuke Tanaka, Fumio Takaiwa, and Hiroshi Kiyono, Proc Natl Acad Sci U S A. 2007 Jun 26;104(26):10986-91



Temperature stability of rice-expressed CTB.

(A) One thousand rice seeds expressing CTB were preserved in a 500-ml sealed bottle for 1.5 years at 4°C as well as at RT (25°C).

(B) Study of specific mucosal IgA response by ELISA. Mice were orally immunized with preserved rice-expressed CTB (50 mg of seed powder containing 75 g of CTB).

9c - Impact du microbiote sur l'immunisation suite à l'ingestion du muco-rice CTB

D'après "Oral MucoRice-CTB vaccine for safety and microbiot-dependent immunogenicity in humans: a phase 1 randomised trial". Yoshikazu Yuki, Masanori Nojima, Osamu Hosono, Hirotooshi Tanaka, Yasumasa Kimura, Takeshi Satoh, Seiya Imoto, Satoshi Uematsu, Shiho Kurokawa, Koji Kashima, Mio Mejima, Rika Nakahashi-Ouchida, Yohei Uchida, Takanori Marui, Noritada Yoshikawa, Fumitaka Nagamura, Kohtaro Fujihashi, Hiroshi Kiyono *Lancet Microbe* 2021; 2: e429-40

Deux populations de souris de profils métagénomiques de microbiote différents ont été vaccinées oralement au temps 0 par le riz Muco-Rice-CTB. Un suivi cinétique de la production d'IgG et IgA est réalisée pour évaluer la réponse immunitaire.

Figure 1 - Composition relative du microbiote intestinal des sujets des populations « A » et « B »

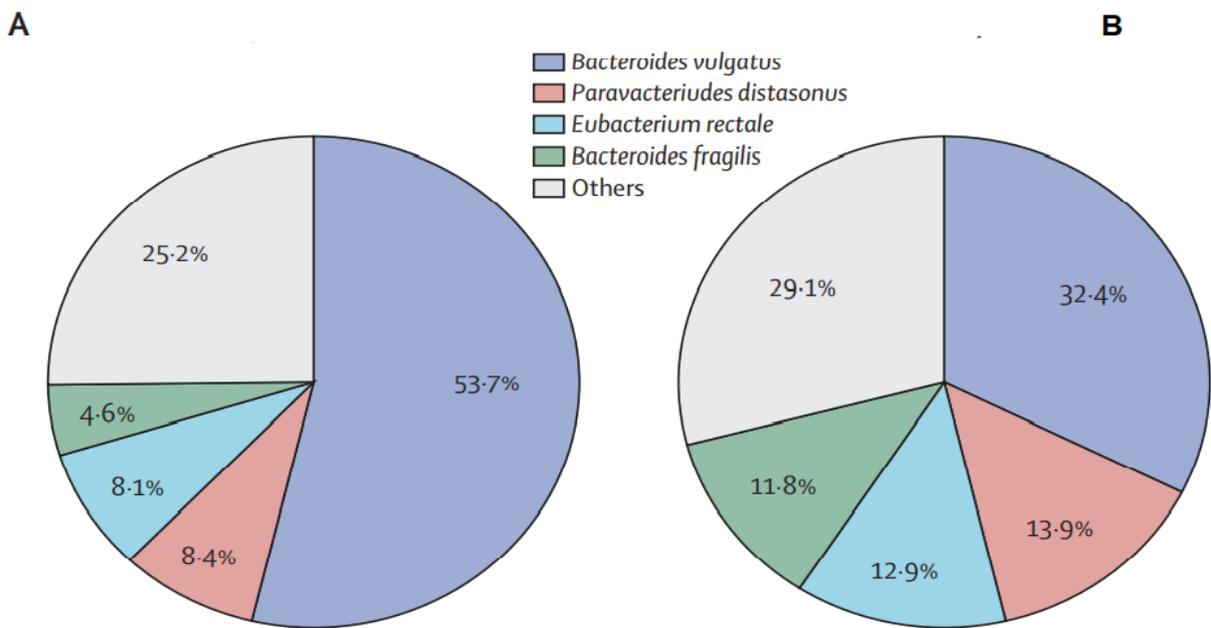
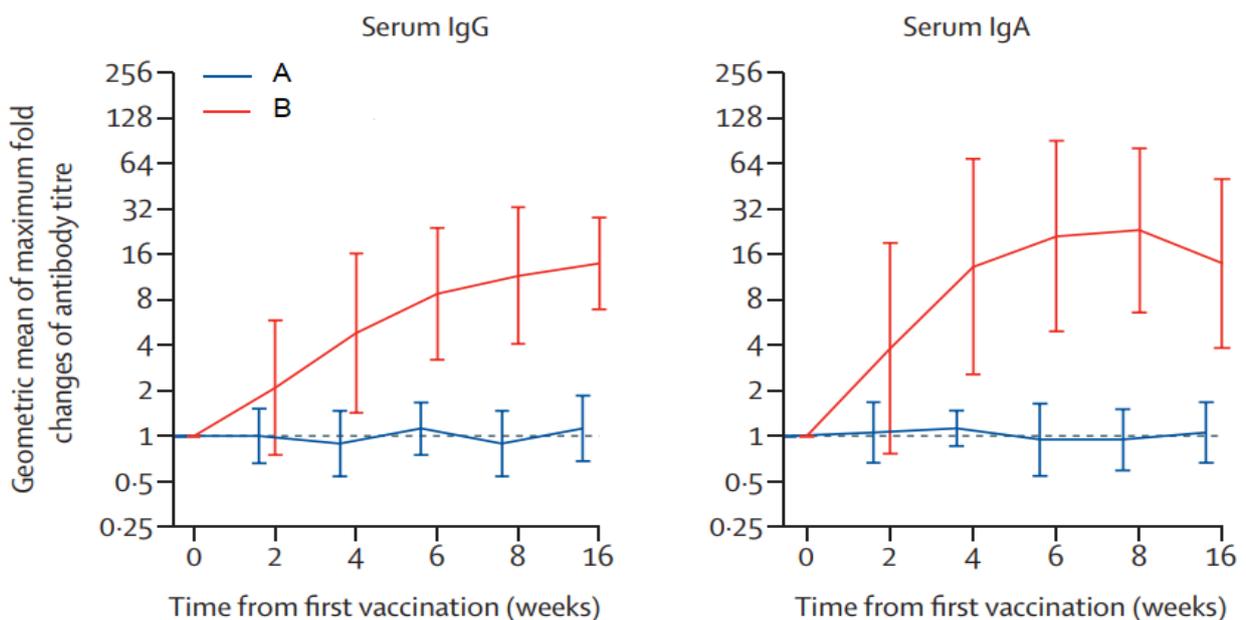
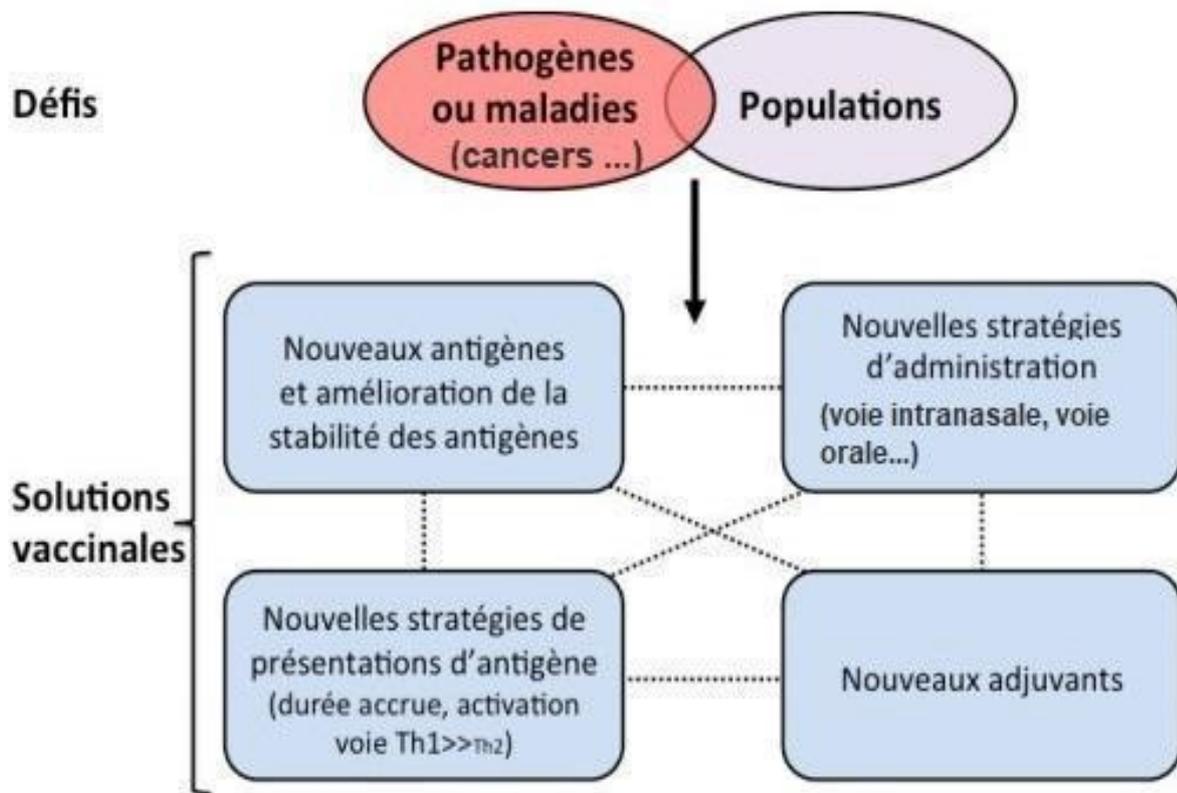


Figure 2 - Comparaison de la réponse immunitaire chez les sujets « A » et « B » à la vaccination par le MucoRice-CTB



Document 10 - Perspectives en termes de développement de vaccin

Dossier INSERM 2015



Document 11 - Extraits du programme de « Biochimie, Biologie et Biotechnologies » en classe de Terminale Sciences et Technologies de Laboratoire spécialité Biotechnologies

Les savoir-faire et concepts sont organisés en trois parties :

- une partie Scientifique (S) pose les concepts en amont des applications biotechnologiques,
- une partie Technologique (T) présente les concepts et savoir-faire spécifiques des activités technologiques et expérimentales du laboratoire de biotechnologies ;
- une partie transversale au Laboratoire (L) présente différentes approches communes à toutes les activités. L'ensemble des activités proposées mobilise les trois parties (S, T et L) du programme. La construction de l'enseignement fait donc appel à l'initiative et à la liberté pédagogique du professeur.

S2.3 Réponse immunitaire adaptative		
Commenter un schéma présentant les acteurs de l'activation d'un lymphocyte B en plasmocyte.	<ul style="list-style-type: none"> - Récepteur des lymphocytes B (BCR). - Lymphocyte T auxiliaire - Coopération cellulaire. - Interaction protéine-ligand*. - Activation monoclonale. 	Observation de photographies de microscopie confocale montrant le contact étroit entre lymphocyte T auxiliaire et lymphocyte B. ↔ Module T1.
Mettre en relation l'ultrastructure d'un plasmocyte et sa fonction de sécrétion.	<ul style="list-style-type: none"> - Cellule sécrétrice. - Anticorps. - Réticulum endoplasmique granuleux*. - Vésicules de sécrétion. 	 Comparaison de la morphologie d'un lymphocyte B et d'un plasmocyte à partir de l'observation de frottis sanguin pathologique coloré au May – Grünwald Giemsa (MGG). Comparaison de l'ultrastructure d'un lymphocyte B et d'un plasmocyte à partir de photographies au microscope électronique à transmission (MET).
Expliquer la mémoire immunitaire à partir du suivi de la concentration plasmatique d'anticorps au cours du temps après immunisation.	<ul style="list-style-type: none"> - Réponse primaire. - Réponse secondaire. - Mémoire immunitaire. 	Interprétation d'expériences d'immunisations répétées avec dosage d'anticorps.
Expliquer le lien entre la présence d'anticorps sériques caractéristiques chez un patient (IgM / IgG) et la chronologie de l'infection.	<ul style="list-style-type: none"> - Isotype. - Immunoglobuline (Ig). - Sérodiagnostic. 	Étude de courbes présentant les taux sériques de différents isotopes d'anticorps spécifiques après infection. ↔ Modules T6 et T8.
Mettre en relation la structure de l'immunoglobuline (Ig) avec sa fonction de fixation de l'antigène.	<ul style="list-style-type: none"> - Interaction protéine-ligand. - Spécificité. - Épitope / paratope. 	Mise en évidence de la spécificité des anticorps d'un sérum dans une expérience d'Ouchterlony.  Visualisation de modèles numériques moléculaires en 3D d'un anticorps.

S2.4 Vaccins et immunothérapies : enjeux de santé publique		
Identifier le rôle des différents constituants d'un vaccin.	<ul style="list-style-type: none"> - Vaccins vivants atténués. - Vaccins inactivés. - Antigène non pathogène. - Immunogénicité. - Adjuvant. 	<p>Comparaison de la composition de vaccins constitués d'agents pathogènes entiers tués, atténués ou de molécules vaccinales (anatoxine...).</p> <p>Illustration du rôle des adjuvants à partir de la composition de différents vaccins.</p>
Distinguer les stratégies médicales de vaccination et de sérothérapie (indications, durée de protection, délai d'efficacité).	<ul style="list-style-type: none"> - Lymphocyte mémoire. - Sérum. - Thérapie. - Prophylaxie. 	<p> Étude de différents contextes d'utilisation de la sérothérapie et de la vaccination.</p> <p>Analyse d'expériences montrant que la protection immunitaire contre un antigène est transférable entre deux individus par une injection de sérum.</p>
Identifier, dans un article, les éléments reflétant les questions éthiques ou sociétales posées par la vaccination.	<ul style="list-style-type: none"> - Protection collective. - Protection individuelle. - Résurgence. 	<p> Étude des enjeux individuels, sanitaires, sociétaux et économiques de la vaccination.</p> <p>⇒ EMC.</p>

T6 – Détecter et caractériser les biomolécules

Notions déjà abordées		
Biotechnologies, classe de première : modules C et 6.		
Pour l'élève, objectifs en fin de formation		Pour le professeur, au cours de la formation
Savoir-faire	Concepts	Activités technologiques
<p>Identifier, dans une procédure, l'antigène et l'anticorps.</p> <p>Déterminer le rôle des différentes étapes de la procédure.</p> <p>Choisir des témoins adaptés.</p> <p>Représenter schématiquement l'édifice moléculaire obtenu à partir d'une procédure opératoire et d'un résultat.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Test qualitatif*. - Antigène / anticorps. - Spécificité*. - Témoin d'efficacité. - Témoin de spécificité. - Édifice moléculaire. 	<p> Identification des acteurs de la réaction antigène-anticorps dans différents types de procédures de détection.</p> <p> Identification dans une procédure des points critiques d'une réaction antigène – anticorps (lavages, concentration en molécules, système de détection) et du rôle des témoins.</p> <p> Schématisation de l'assemblage des antigènes et des anticorps après analyse de différentes procédures.</p>
<p>Mettre en œuvre une réaction immuno-enzymatique.</p> <p>Analyser un résultat qualitatif après validation des témoins.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Conjugué. 	<p> Détection de bactéries, virus, d'allergènes, de toxines par réaction ELISA.</p> <p>↔ Module S2.</p> <p>↔ Module T8.</p> <p>  Mise en évidence de structures cellulaires par immunomarquage.</p> <p>↔ Module T1.</p>

T7.2 Séparation des biomolécules par électrophorèse

<p>Déterminer la charge globale d'une molécule selon le pH du tampon de travail. Prévoir le sens de migration à partir des données fournies.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Champ électrique. - Anode/cathode. - Molécule chargée*. - Sens de migration. 	<p> Électrophorèse sur papier de mélanges d'acides aminés dans des tampons de pH différents.</p> <p> Séparation des protéines du blanc d'œuf en gel d'agarose avec révélation au bleu de Coomassie.</p>
<p>Mettre en œuvre une procédure d'électrophorèse en tenant compte des points critiques.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Tampon de migration. - Support de migration. - Vitesse de migration. 	<p>  Électrophorèse des protéines du sérum et exploitation par logiciel d'analyse d'image.</p> <p> Préparation d'un gel d'agarose et mise en œuvre d'une électrophorèse d'ADN.</p>
<p>Interpréter un électrophorégamme pour identifier les biomolécules séparées.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Distance de migration. - Marqueur de taille. - Marqueur de masse moléculaire. - Révélateur spécifique. 	<p> Détermination de la taille d'un fragment d'ADN.</p> <p>Identification d'une protéine d'un mélange simple par sa masse moléculaire.</p> <p>↔ Module T6.</p> <p>↔ Module T9.</p> <p>↔ Module L4.</p>

T9.3 Digestion d'une molécule d'ADN par une enzyme de restriction

<p>Choisir une enzyme de restriction adaptée pour digérer un fragment d'ADN dans un contexte donné. Prévoir la taille des fragments d'ADN digérés.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Endonucléase. - Site de restriction. - Bouts collants / bouts francs. - Produits de digestion. 	<p> Exploitation de ressources numériques pour des activités : d'identification de sites de restriction dans une séquence donnée ; de simulation d'une restriction <i>in silico</i> ; de prévision de la taille des produits de digestion.</p> <p>↔ Module L4.</p>
--	---	--

T9.4 Clonage d'un fragment d'ADN

<p>Décrire les caractéristiques d'un vecteur de clonage. Explorer les outils permettant de choisir l'enzyme de restriction appropriée.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Plasmide. - Origine de répllication. - Promoteur. - Site de clonage multiple. - Marqueur de sélection. - Gène rapporteur. 	<p>Modélisation d'un clonage à l'aide d'un support papier ou numérique.</p> <p> Extraction-purification d'un vecteur de clonage.</p> <p> Recherche dans les banques de données d'ADN.</p> <p>↔ Module L4.</p>
<p>Décrire les étapes d'un clonage.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Digestion. - Ligation. - Cellule compétente. - Transformation. - Sélection. 	<p>Analyse d'un mode opératoire de clonage.</p> <p> Schématisation des différentes étapes d'un clonage.</p> <p>  Exploitation de ressources documentaires pour montrer l'intérêt du clonage dans un contexte de recherche ou de production en « cellule-usine » (médicament, protéine d'intérêt industriel ...).</p>